

# **Auxin Action in a Cell-Free System**

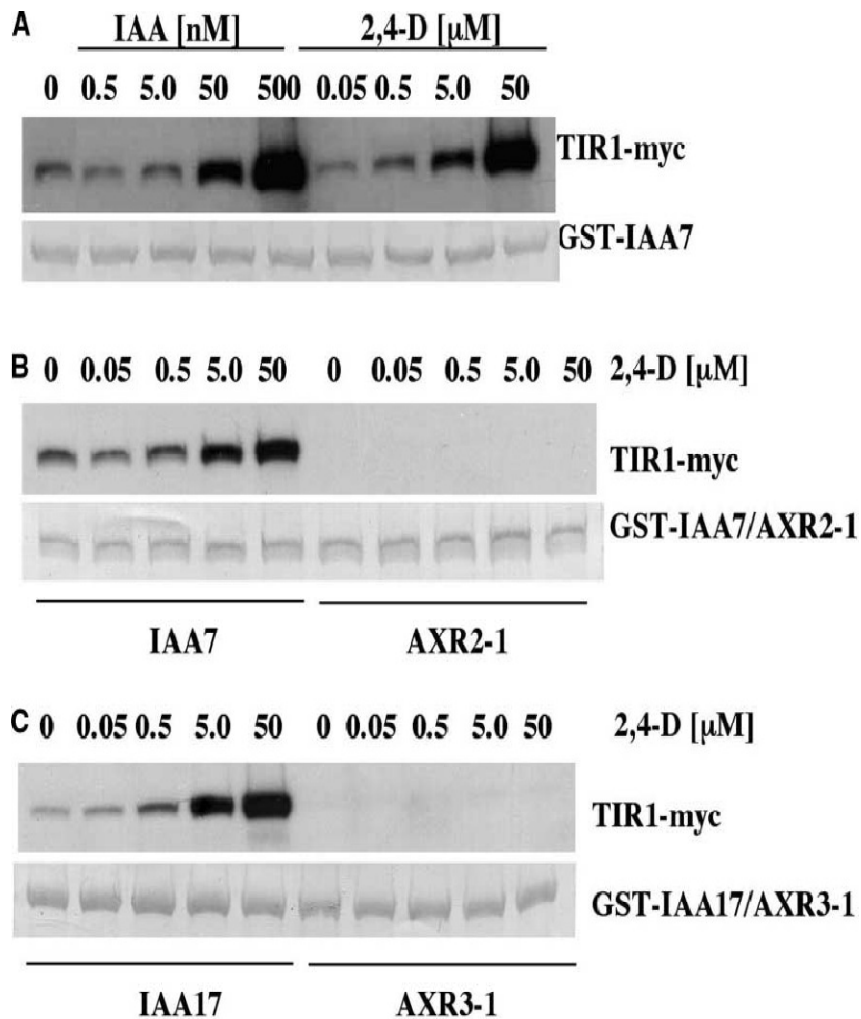
**Nihal Dharmasiri, Sunethra Dharmasiri,  
Alan M. Jones,<sup>2</sup> and Mark Estelle<sup>1</sup>**

# Ziele

→ Interaktion von Aux/IAA Proteinen mit SCF-Komplex ist unabhängig von Phosphorylierung

→ Unabhängigkeit von einem Zellsystem  
( Ausschluss von membranständigen Rezeptor)

# Auxin stimuliert Interaktion zwischen SCF-Komplex und Aux/IAA Proteinen im zellfreien System

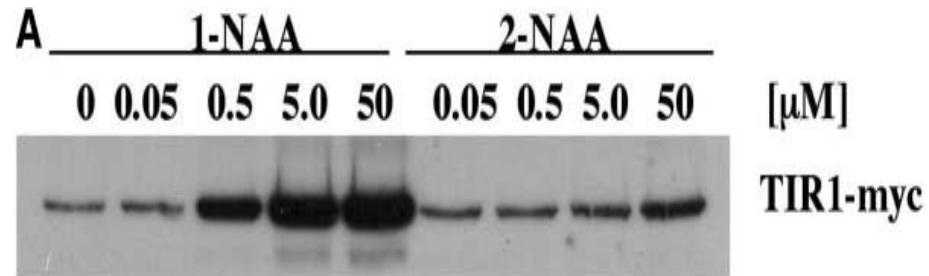


→ A: IAA ist wirkt effektiver als 2,4-D

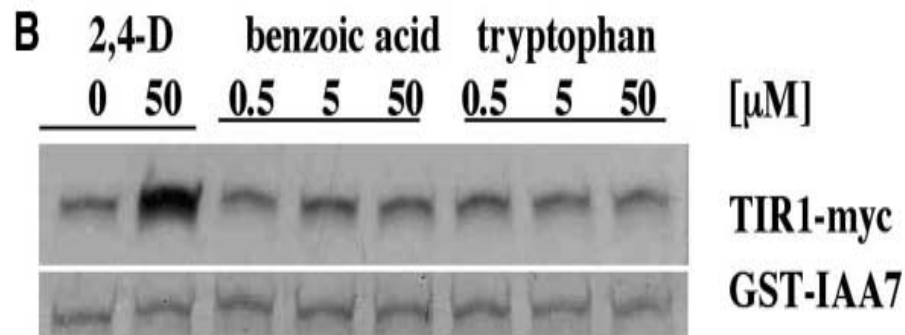
→ B+C:

- Auxin hat keinen Einfluss auf die Mutante
- alle Mitglieder der IAA-Protein-Familie zeigen ähnliches Verhalten in Bezug auf Auxin

# Spezifität der zellfreien Auxin response

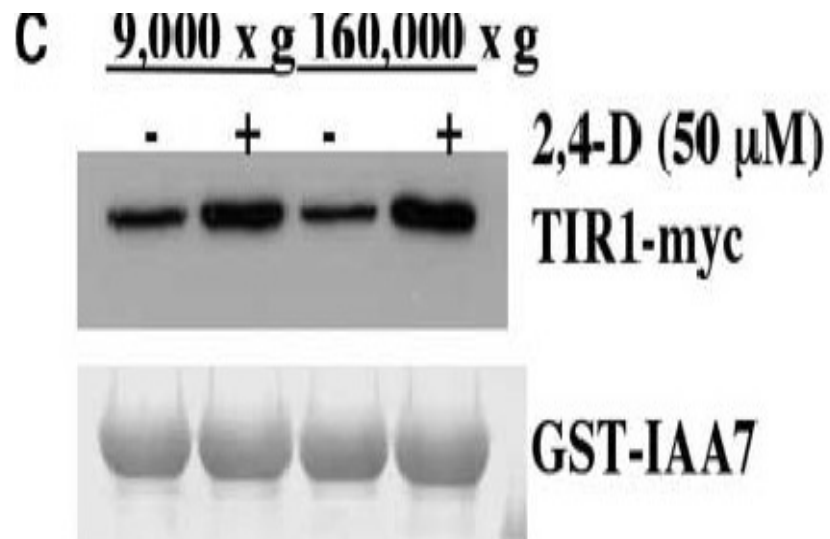


→ 1NAA hat größeren Effekt als 2NAA, da 2NAA biolog. nicht aktiv



→ Benzoessäure und Tryptophan haben ebenfalls keinen Einfluss auf die Interaktion von SCF-Komplex und Aux/IAA-Proteinen

# Unabhängigkeit von Zellmembranen

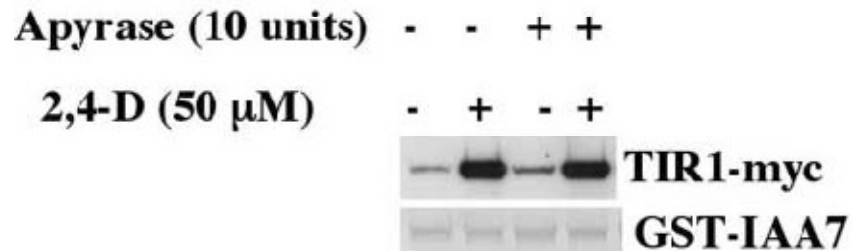


- Membran wurde zerstört → keine Änderung in Bezug auf die von Auxin geförderte Interaktion

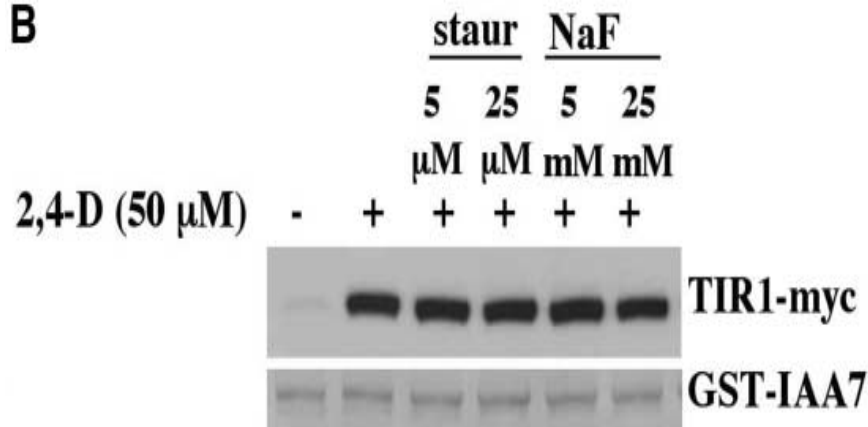
→→ Theorie: es muss zur Wechselwirkung von Hormon und löslichem Protein kommen

# Unabhängigkeit von Phosphorylierung

**A**



**B**



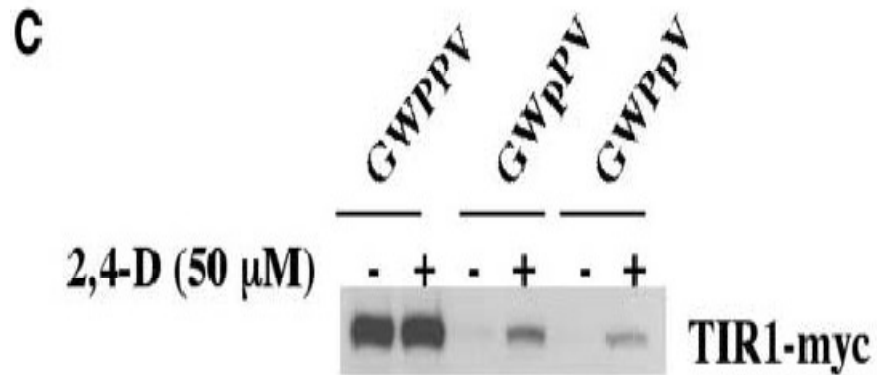
**E**

- Apyrase hydrolysiert ATP
- Stauroporin hemmt Kinase-Aktivität
- NaF hemmt Phosphatase-Aktivität

➔ Inhibitoren haben keinen Einfluss auf Interaktion

➔➔ ATP; Phosphorylierung und Dephosphorylierung sind nicht verantwortlich für Interaktion

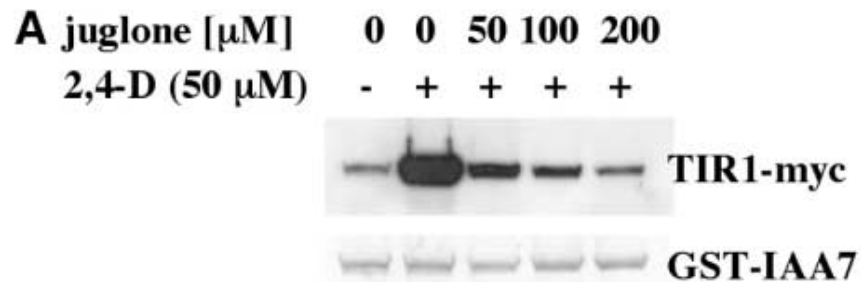
# Alternative zur Phosphorylierung



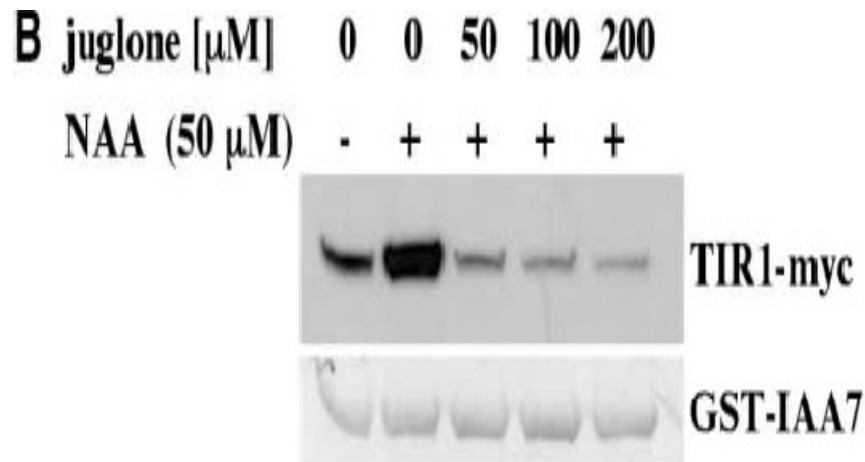
➔ Modifikation der konservierten Proline (pro-81 + pro-82) in der Domäne II vermindert die Interaktion von SCF-Komplex und Aux/IAA Proteinen



# PPlase reguliert Auxin response (in vitro)



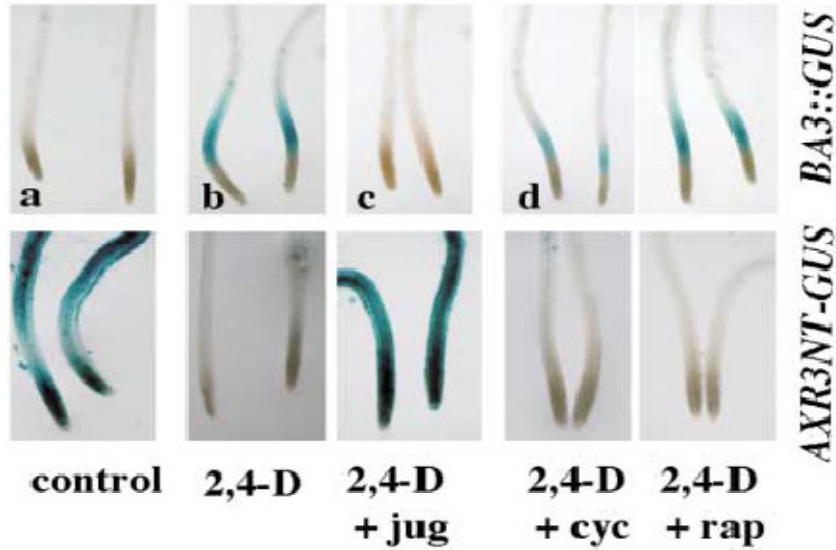
- Zugabe von Juglon ( Inhibitor der PPlase)
- Abnahme der Affinität zur Interaktion von SCF-Komplex mit Aux/IAA Proteinen



→→ PPlase reguliert die Interaktion

# in vivo

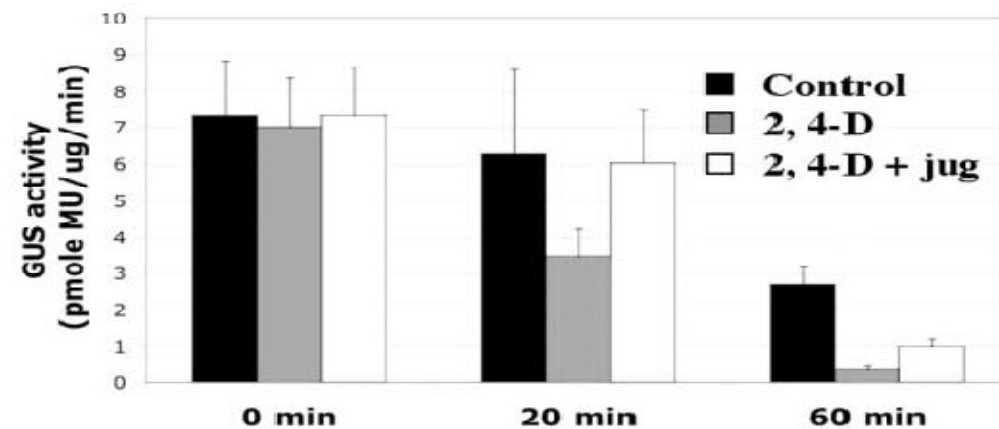
C



→ nur Juglon zeigt hemmende Wirkung

→ In vitro Ergebnisse entsprechen den in vivo Erkenntnissen

D



# Erkenntnisse

- ➔ Kein membranständiger Auxinrezeptor
- ➔ Phosphorylierung spielt keine Rolle bei der Interaktion
- ➔ PPlase reguliert wahrscheinlich die Interaktion

# aktuelles Modell

